Daneshvar Medicine
Basic and Clinical Research Journal Vol. 28, No. 1, 2020

Research Paper

Comparative study of the proliferation potency of adipose tissue derived stem cells from infrapatellar area, subcutaneous adipose tissue and tail fat pad in a sheep animal model

Parviz Vahedi[1*], Masood Madadi[2], Ahad Ferdoosi khosroshahi[3]

1. Department of Anatomy, Maragheh University of Medical Science, Maragheh, Iran
2. Research Center, Veterinary Office, Maragheh, Iran
3. Department of Anatomy, Tabriz University of Medical Science, Tabriz, Iran

*** Corresponding author e-mail: pa.vahedi48@gmail.com**

Citation: Vahedi P, Madadi M, Ferdoosi khosroshahi Comparative study of the proliferation potency of adipose tissue derived stem cells from infrapatellar area, subcutaneous adipose tissue and tail fat pad in a sheep animal model. Daneshvar Medicine 2020; 28(1):1-11.

Abstract

Background and Objective: The stem cells are obtained from different sources and due to the role of them in the treatment and recovery of damaged tissues, characterizing and identifying of the sources of stem cells and investigating them is particularly interesting for researchers. Thus, the purpose of this study was to identify ideal tissue sources and capture stem cells with appropriate differentiation and proliferation potential.

Materials and Methods: The adipose tissue sample were harvested from the tail adipose tissue, subcutaneous and infrapatellar in the slaughterhouse from male sheep about 2 years old and were rinsed to small pieces in the laboratory and were treated by the collagenase enzyme and the cells were counted by Neubauer chamber with inverted microscope and then about 105 cells were cultured in T25 flask and was calculated the doubling time by deleted the Peterson formula Td=Tlg2/lg(Nt/N0). Data were analyzed using analysis of variance (P< 0/02).

Results: Our findings showed that the stem cells of the three areas in the early passages are similar to each other in regarding proliferation and morphological potentials, but in higher passages as compared to the subcutaneous and tail fat, the cells of the infrapatellar region received confluence 80% in shorter time than the others.

Conclusion: The results of this study showed that infrapatellar adipose tissue stem cells maintain their proliferation potential and differentiation for long time as compared to adipose tissue of other areas. So infrapatellar fat pad can be an ideal source for obtaining stem cells.

Keywords: Stem cells, Subcutaneous adipose tissue stem cells, Cell proliferation, Infrapatellar fat pad stem cells

Received: 23 Dec 2019
Last revised: 15 Mar 2020
Accepted: 07 Apr 2020

مقاله پژوهشی

مقایسه پتانسیل تکثیری سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی ناحیه دنبه، اینفرا پاتلا و زیر پوستی در مدل حیوانی گوسفند

نویسندگان: پرویز واحدی[1*]، مسعود مددی[2]، احد فردوسی خسروشاهی [3]

۱. گروه علوم تشریح، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی، مراغه، ایران
۲. مرکز تحقیقات، اداره دامپزشکی، مراغه، ایران
۳. گروه علوم تشریح، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی، تبریز، ایران

*نویسنده مسئول: پرویز واحدی **Email: pa.vahedi48@gmail.com**

چکیده

مقدمه و هدف: سلولهای بنیادی از منابع مختلفی به دست می آیند و به دلیل نقش آنها در درمان و بهبود بافت های آسیب دیده شناسایی منابع سلولهای بنیادی و بررسی آنها از نظر پژوهشگران بسیار با اهمیت می باشد، لذا هدف از این مطالعه شناسایی منابع بافتی ایده آل و به دست آوردن سلولهای بنیادی با پتانسیل تکثیری و تمایزی مناسب می باشد.

مواد و روش ها: نمونه بافت در کشتارگاه از ناحیه دنبه، زیر جلدی و اینفراپاتلای گوسفند نر با سن ۲ ساله برداشته شد و نمونه ها در آزمایشگاه تکه تکه شدند و تحت تأثیر آنزیم کلاژناز قرار گرفتند؛ و سلولها با لام نئوبار زیر میکروسکوپ اینورت شمارش شدند و به تعداد ۱۰۵ سلول به هر فلاسک کشت داده شدند و برای تعیین مدت دو برابر شدن سلولها از فرمول پترسون (Td=Tlg2/lg(Nt/N0 استفاده شد. داده ها با استفاده از آنالیز واریانس تحلیل شدند (P>۰/۰۵).

نتایج: یافته ها نشان دادند که سلولهای بنیادی به دست آمده از هر سه ناحیه در پاساژهای اولیه توان تکثیری و مورفولوژی مشابه به هم داشتند ولی در پاساژهای بالاتر، سلولهای به دست آمده از بافت چربی ناحیه اینفراپاتلا در مقایسه با سلولهای زیرپوستی و دنبه در مدت زمان کمتری به ظرفیت تکثیری ۸۰٪(confluenc) رسیدند.

نتیجه‌گیری: نتیجه‌گیری می شود که سلولهای بنیادی ناحیه ایفرا پاتلا در مقایسه با سلولهای بافت چربی سایر نواحی، برای مدت طولانی پتانسیل تکثیری خودشان را حفظ می کنند لذا بافت چربی ناحیه اینفرا پاتلا یک منبع ایده ال برای تهیه سلولهای بنیادی می تواند باشد.

واژه های کلیدی: سلولهای بنیادی، سلولهای بنیادی بافت چربی زیر پوستی، توان تکثیری سلولهای بنیادی، سلولهای بنیادی بافت چربی اینفراپاتلا

دریافت: ۹۸/۱۰/۰۲
آخرین اصلاح‌ها: ۹۸/۱۲/۲۵
پذیرش: ۹۹/۰۱/۱۹

مقدمه

در مهندسی بافت و بازساختی پزشکی سلولهای بنیادی نقش مهمی در درمان های مبتنی بر سلول درمانی دارند و سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی از سلولهای بنیادی چند توان هستند که می توانند به عنوان یک منبع سلولی برای سلول درمانی مورد استفاده قرار گیرند (۱). با توجه به کاربرد وسیع سلولهای بنیادی در مطالعات پزشکی بازساختی، زیست شناسی تکوینی، تحقیق و تولید دارو، مطالعات ژنتیکی و تولید موجودات ترانسژنیکی، ضروری است در باره این سلولها و منابع دسترسی آسان به این سلولها شناسایی شوند (۲).

جهت شناسایی سلولهای بنیادی با توجه به متفاوت بودن شاخص های سطح سلولی بیان شده و اختلاف نظرهای ارائه شده در مطالعات، کمیته بین المللی سلول درمانی شاخص هایی را برای شناسایی این سلولها ارائه داده است که عبارتند از فنوتیپ سلولی: بیان مثبت ۹۵ در صد مارکرهای CD90,CD105,CD73 و بیان منفی مارکرهای CD14,CD11b, CD19 یا CD45,CD34,CD79a و HLA-DR، اتصال به سطح پلاستیکی در شرایط کشت و تمایز به رده های سلولی که تحت تحریکات اختصاصی باید به سلولهای بافت‌های مختلف تمایز یابند (۳).

سلولهای بنیادی مختلفی برای سلول درمانی استفاده می شود از جمله سلولهای بنیادی مزانشیمی مغز استخوان که توان تبدیل به سلولهای بافت‌های استخوانی، غضروفی، عضلانی و چربی را دارند. با این حال، سلولهای بنیادی مشتق از مغز استخوان برای استفاده بالینی به علت روش شدید تهاجمی، غیر بهینه هستند (٤).

فریدنشتاین و همکارانش در سال ۱۸۹۱، موفق به جداسازی گروهی از سلول‌ها از مغز استخوان شدند که سولهای استرومایی مغز استخوان یا سلولهای بنیادی مزانشیمی نامیده می شوند این سلولها تحت شرایط خاصی توانایی تمایز به سلوهای بافت‌هایی از قبیل سلولهای غضروفی، استخوانی و چربی بودند. این سلولها برای مدت طولانی قابلیت تبدیل و تمایز به سلولهای سایر بافت‌ها را در خود حفظ می کنند (۵).

تحقیقات علوم پایه و مطالعات پیش بالینی در تلاش هستند که از سلولهای بنیادی در درمان بیماران بطور گسترده استفاده کنند. از سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی در درمان بیماریهای مختلف از جمله مالتیپل اسکلروزیس، آرتریت روماتوئید، دیابت و در جراحی پلاستیکی برای درمان زخم‌های پوستی استفاده می شود (٦). علاوه بر این از این سلولها برای درمان بیماریهای مغزی در انسان استفاده شده است که بهبودی آن بعد از ۱۲ ماه گزارش شده است. در دو دهه اخیر سلول درمانی بر پایه سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی توسعه بیشتری یافته است و مطالعات گزارش کرده اند که نقش و تأثیرات درمانی بر اساس نوع سلولهای بنیادی و ناحیه پیوندی فرق می کند و لازم به مطالعه و آزمایش‌های بیشتری در روی سلولهای بنیادی در انسان و حیوان می باشد (۷،۸).

در اوایل قرن ۲۱، زاک و همکارانش در مطالعه در مورد منابع مختلف سلولهای بنیادی، جمعیتی از سلولهای چند قوه ای تمایز نیافته را که از لحاظ فنوتیپی و شکلی شبیه سلولهای بنیادی مغز استخوان بودند از بافت چربی جداسازی کردند و اینها سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی نامگذاری شدند مهمتر از همه دسترسی آسان به بافت زیر جلدی، داشتن حداقل تهاجمی و جداسازی آسان آن از مزیت‌های این بافت می باشد (۹).

سلولهای بنیادی مشتق از بافت هر ناحیه از لحاظ پتانسیل تکثیر و تمایز با ناحیه دیگر متفاوت می باشد و نیاز به مطالعات بیشتر دارد (۸). مطالعات گزارش کرده اند که سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی اینفرا پاتلا با افزایش سن بندرت تمایز خود بخودی می یابند و به مقدار زیاد از بافت چربی اینفرا پاتلا تهیه می‌گردند بافت چربی اینفرا

پاتلا بافت همبند متراکم بوده و شبیه بافت چربی احشایی می باشد و در مقایسه با بافت چربی زیر پوستی که بیشتر از غدد درون ریز تشکیل شده است پتانسیل کندرژنیکی بالایی دارند که احتمال دارد سلولهای بنیادی مشتق از آن توان تمایزی بالایی نسبت به سایر بافت‌های چربی داشته باشد (۱۰).

همچنین کیفیت سلولهای بنیادی بافت چربی و حفظ ظرفیت تمایزی و تکثیری سلولهای این بافت و عدم کاهش قدرت تکثیری سلولهای بنیادی با افزایش سن، از برتری سلولهای مشتق از این بافت می باشد و یک مزیت روشن نسبت به سلولهای بنیادی مغز استخوان به حساب می آید (۱۱). بنابراین، بافت چربی یکی از مهمترین منابع استخراج سلولهای بنیادی می باشد که این بافت دارای مزیت های متعددی نسبت به سایر منابع استخراج سلولهای بنیادی داشته که امکان تهیه سلولهای بنیادی به مقدار زیاد، به منظور مقاصد درمانی می باشد (۱۲).

با توجه به استفاده از سلولهای بنیادی در سلول درمانی، در نظر گرفتن قدرت حفظ حیاط سلولی در محیط کشت آزمایشگاهی، زمان تقسیم سلولها و توان تکثیر سلولهای بنیادی تا رسیدن به تعداد مناسب سلول بمنظور پیوند بسیار ضروری بوده و از مهمترین عوامل سلول درمانی محسوب می شود. علاوه بر این، سرنوشت سلولهای بنیادی بستگی به محلی دارد که از آن استخراج می‌گردد (۱۳،۱٤). لذا در این مطالعه برای دستیابی به منبع سلولی ایده ال، سلولهای بنیادی بافت چربی ناحیه دنبه، زیر جلدی و ناحیه اینفراپاتلا مورد ارزیابی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

جداسازی سلولهای بنیادی: نمونه بافت در کشتارگاه با رعایت شرایط استریل از ناحیه دنبه، زیر پوستی و اینفراپاتلای گوسفند نر با سن ۲ ساله برداشته شد و در PBS (phosphate- buffered saline) قرار داده شد به آزمایشگاه انتقال گردید. نمونه بافت چربی تحت شرایط استریل در زیر هود لامینار کلاس ۲ با اسکالپل به قطعات کوچکتر چند میلیمتری بریده شد و بافت همبند و عروق خونی از آن جدا گردید.

جهت تجزیه، نمونه بافت چربی به تکه های کوچکتر تقسیم شدند و وزن گردیدند و به ازای یک گرم از بافت چربی ۵۰۰ میکرون محلول آنزیم کلاژناز نوع (Sigma, USA) I A استفاده شد و مدت ٤۰ دقیقه انکوبه شد و از هر ۱۰ دقیقه یک بار بهم زده شد تا کاملاً مخلوط شود بعد از حل شدن کامل تکه های بافت چربی، جهت خنثی کردن فعالیت آنزیم به سوسپانسیون سلولی محیط کشت DMEM low glucose (Gibco, USA) حاوی ۱۰٪ FBS و آنتی‌بیوتیک پنی سیلین – استروپتوماسین اضافه گردید به مدت ۵ دقیقه با ۱٦۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد و مایع رویی برداشته شد و سلولهای بنیادی حاصل با لام نئوبار با میکروسکوپ اینورت شمارش شدند و به تعداد 10^5 سلول به هر فلاسک انتقال داده شد. در هر ۲٤ ساعت محیط کشت سلولی عوض شد. در کشت اولیه بعد از ۵ روز سلولها حدود ۸۰–۹۰ در صد فلاسک را پر کردند بنابراین در این مطالعه پاساژ سلولی تا ۱۲ مرحله تکرار شد.

زمان دو برابر شدن سلولها Population doubling time (PDT):

سلولها با لام نئوبار در انتهای هر پاساژ سلولی با میکروسکوپ اینورت شمارش شدند و به تعداد 10^5 سلول به هر فلاسک کشت داده شد. جهت تعیین تعداد اولیه و تعداد سلولها در انتهای پاساژ، از فرمول ریاضی پترسون $Td=Tlg2/lg(Nt/N0)$ استفاده شد. در این فرمول Td زمان دو برابر شدن، Tمدت زمانی که طول می‌کشد تا سلول تکثیر شود N0 نشان‌دهنده تعداد سلولهای شمارش شده در ابتدا و N نشان‌دهنده تعداد سلولهای شمارش شده در انتهای هر پاساژ سلولی می‌باشد.

فلوسایتومتری

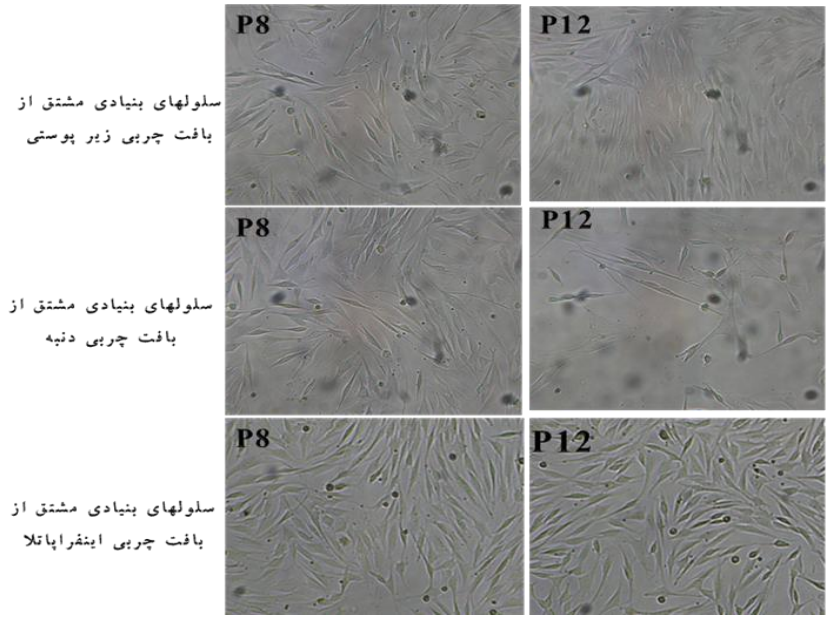
در این آزمایش از آنتی بادی های Anti-CD44(3µl), Anti-CD90(3µl), Anti-CD34(3µl), Anti-CD45(3µl) استفاده گردید. به ٦ میکروتیوب ۱,۵ میلی لیتری، به تعداد ۱×۱۰^۵ سلول و ۱ میلی لیتر PBS اضافه شد و به هرکدام یک نوع آنتی بادی اضافه شد و به یکی از میکروتیوب ها آنتی بادی ایزوتایپ کنترل اضافه شد و یکی دیگر بعنوان گروه کنترل انتخاب شد و هیچ آنتی بادی اضافه نشد به مدت یک ساعت در تاریکی انکوبه شدند و بعد فلوسایتومتری انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری

جهت بررسی نرمال بودن توزیع داده ها از آزمون برآورد نرمالی شاپیرو ویلیک استفاده شد. پس از اطمینان از توزیع نرمال داده ها، برای مقایسه تعداد سلولهای حاصل از هر پاساژ سلولی (به تعداد ۹ نمونه سلولی) مربوط به هر بافت چربی دنبه، ناحیه زیر پوستی و اینفراپاتلا از آزمون تحلیل واریانس (ANOVA) استفاده شد. تمام محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ انجام گرفت و معنادار بودن تفاوتها با P value کمتر از ۰/۰۵ ارزیابی شد.

نتایج

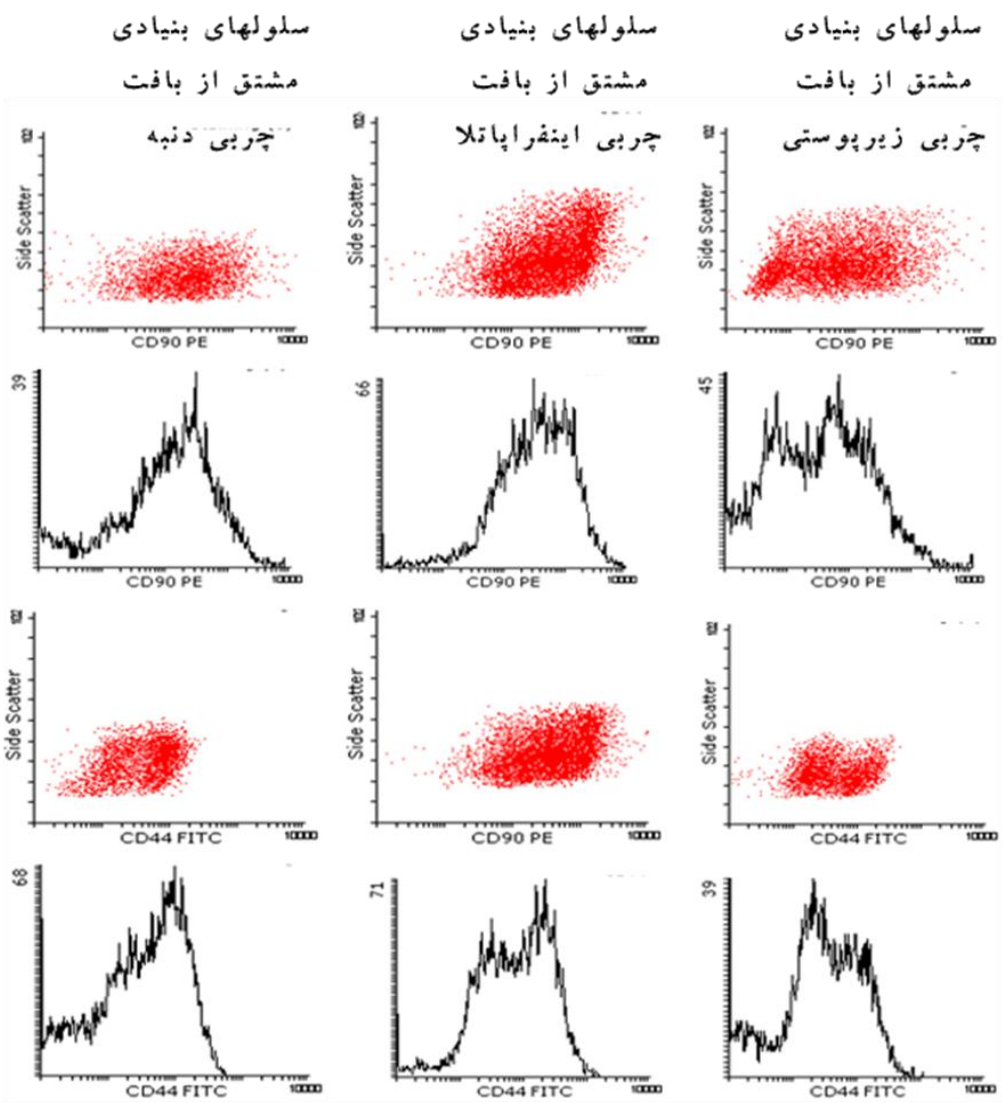
سلولهای بنیادی حاصل از هر سه نوع بافت چربی درکشت داخل فلاسک ٢٤ ساعت بعد از کشت در زیر میکروسکوپ اینورت به شکل گرد و تا حدودی دوکی شکل مشاهده شدند و در پاساژ اولیه شکل سلولهای بنیادی هر سه نوع بافت چربی اکثراً دوکی شکل دیده شدند و اختلاف ما بین زمان رسیدن سلولها به ظرفیت ۸۰ درصد تا پاساژ ٤ معنی‌دار نبود ولی در پاساژهای بعدی از لحاظ تعداد سلولهای حاصل، مورفولوژی سلولها، توان تکثیری و درصد قابلیت زیستی سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی هر سه ناحیه با هم تفاوتهایی مشاهده گردید. شکل دوکی سلولها بتدریج تغییر پیدا کرد و این وضعیت در سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی ناحیه زیرپوستی بیشتر مشاهده گردید (شکل ۱).



شکل ۱. نتایج تکثیر و مورفولوژیکی سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی ناحیه دنبه، زیر پوستی و اینفراپاتلا در میکروسکوپ اینورت با بزرگنمایی 40X

فلوسایتومتری سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی

نتایج حاصل از فلوسایتومتری نشان داد که سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی هر سه ناحیه مارکرهای سطحی (CD90, CD44) را بیان کردند و مارکرهای هماتوپویتیک را بیان نکردند. تفاوتهایی در تراکم سلولی و درصد بیان مارکرهای سطح سلولی در بین این سه گروه مشاهده گردید (شکل ۲).

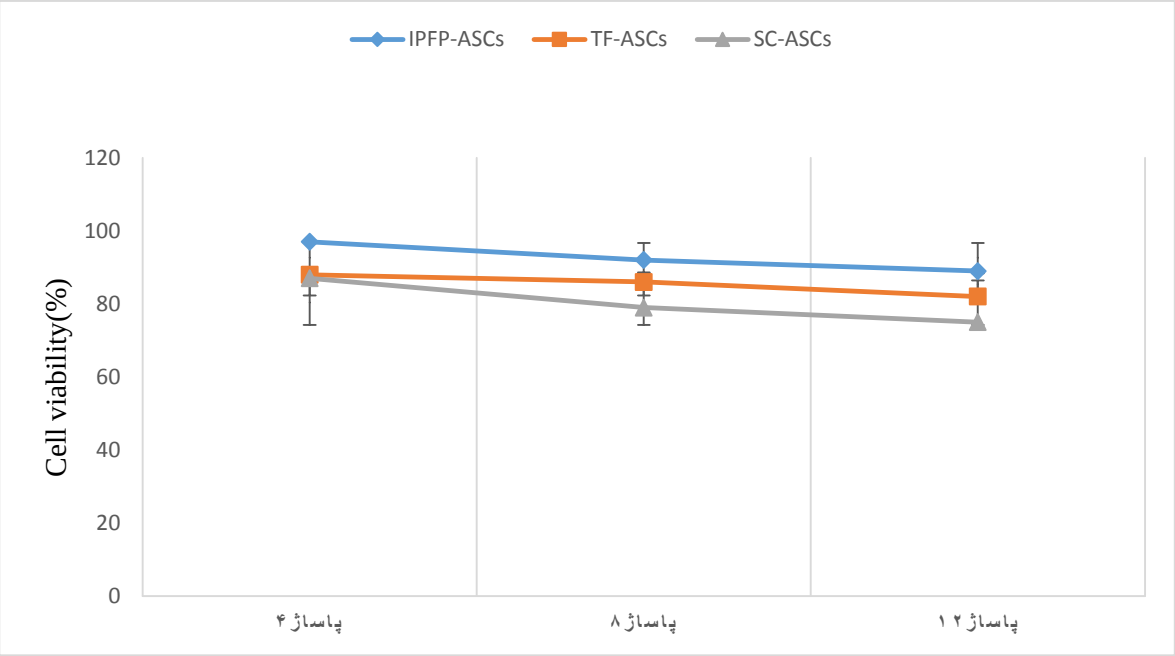


شکل ۲. نتایج فلوسایتومتری که جمعیت، تراکم سلولی و مارکرهای سطح سلولی مربوط به سلولهای بنیادی بافت چربی (CD44,CD90) را در بافت چربی نواحی دنبه، زیرپوستی و اینفراپاتلا را نشان می دهد

درصد قابلیت زیستی سلولهای بنیادی ناحیه اینفرا پاتلا، دنبه و زیر پوستی

درصد قابلیت زیستی سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی ناحیه اینفرا پاتلا، دنبه و زیر پوستی در طول مدت شمارش سلولها در پاساژهای ۴،۸ و ۱۲ با رنگ آمیزی تریپان بلو مشخص شد و این داده ها در سه گروه سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی ناحیه اینفرا پاتلا، دنبه و زیر جلدی مقایسه شدند. در بررسی با آزمون آماری تحلیل واریانس

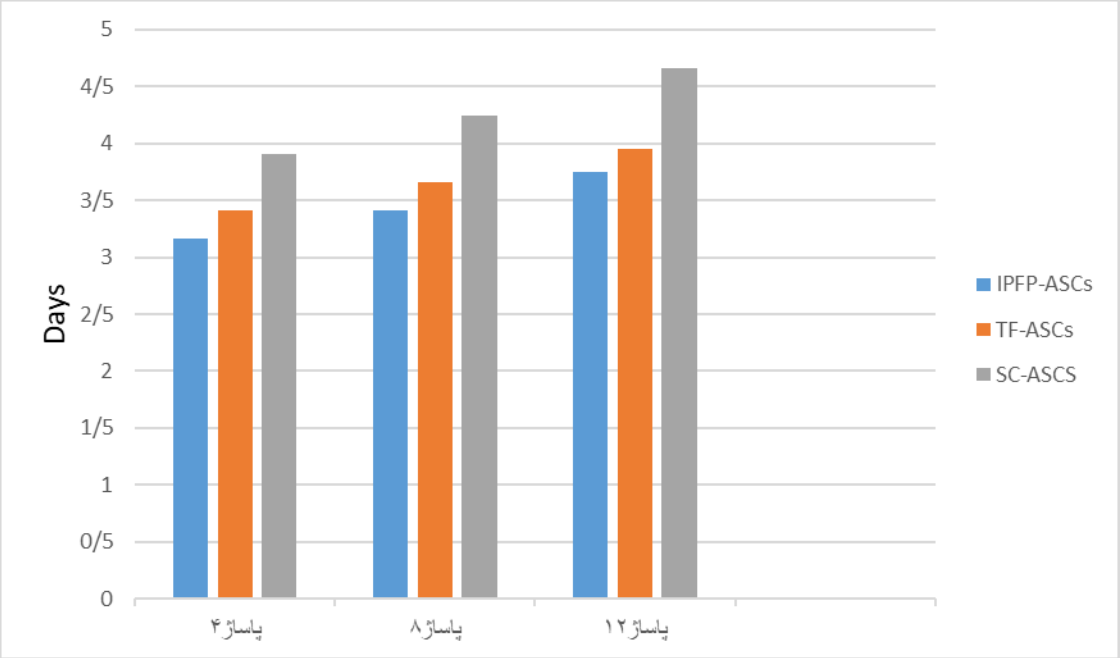
(ANOVA)، تفاوت معنی‌داری بین سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی ناحیه اینفرا پاتلا، دنبه و زیر پوستی در پاساژهای مختلف نشان داده شد (P<۰/۰۵)(شکل ۳).



شکل ۳. در صد قابلیت زیستی سلولهای بنیادی بافت چربی ناحیه اینفرا پاتلا، زیر جلدی و بافت چربی ناحیه دنبه در طول شمارش در پاساژهای ۴، ۸ و ۱۲

میانگین زمان دو برابر شدن جمعیت سلولهای بنیادی بافت چربی

میانگین زمان دو برابر شدن جمعیت سلولهای بنیادی در فاز رشد لگاریتمی برای همه سلولهای بنیادی ناحیه اینفرا پاتلا در این مطالعه 44 /3 روز بود و برای سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی دنبه 3.67 روز و برای سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی زیر جلدی 4.25 روز بود (شکل ٤). نتایج حاصل از تحلیل آماری واریانس نشان داد که بین مدت زمان تکثیر سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی زیرپوستی و اینفراپاتلا برای پر کردن فلاسک کشت تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ولی این اختلاف بین سلولهای مشتق از بافت چربی اینفراپاتلا و دنبه معنی‌دار بود (P<۰/۰۱).



شکل ۴. زمان دو برابر شدن جمعیت سلولهای بنیادی بافت چربی نواحی اینفراپاتلا، زیر جلدی و بافت چربی دنبه در پاساژهای ۴، ۸ و۱۲.

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه استفاده از سلولهای بنیادی برای درمان ضایعات بافتی و بیماریها اهمیت بیشتری پیدا کرده است. سلولهای بنیادی می توانند به انواع سلولهای بافتی دیگر تبدیل شوند. در مطالعه حاضر سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی سه ناحیه زیر جلدی، بافت چربی دنبه و اینفراپاتلا ارزیابی شدند و نشان داده شد که سلولهای ناحیه اینفراپاتلا توان تکثیری بالایی دارند و در پاساژهای بالاتر هم توان تکثیری و موفولوژی خود را حفظ می کنند.

با اینکه از مغز استخوان برای تهیه سلولهای بنیادی استفاده می شود ولی به دلایلی، نمونه برداری از بافت چربی و استفاده از سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی بهتر می باشد که عبارتند از: ۱- میزان بقاء، قدرت تمایز و تعداد سلولهای بنیادی مشتق از مغز استخوان با افزایش سن کاهش می یابد در حالیکه این محدودیت سنی برای بافت چربی وجود ندارد.۲- تهیه نمونه مغز استخوان تهاجمی و دردناک است. ۳- سلولهای بنیادی مغز استخوان در پاساژهای بالاتر دچار تمایز خودبخودی می شوند و این در حالی است که در سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی تمایز خود بخودی بندرت دیده می شود (۱۵).

در مطالعه حاضر نمونه بافتی از سه ناحیه متفاوت برداشته شد و سلول‌های بنیادی مشتق از این سه ناحیه در پاساژهای اولیه تا پاساژ ٤ از نظر مورفولوژی و تعداد سلولهای تکثیر یافته تفاوت معنی‌داری نداشتند در حالی که در پاساژهای بالاتر تفاوت بیشتری در تعداد سلولهای به دست آمده از هر پاساژ مشاهده شد که این تفاوت در تعداد سلولهای بنیادی، اهمیت و برتری بافت چربی ناحیه مربوطه را مشخص می کند. با توجه به نقش سلولهای بنیادی در درمان و بازسازی بافت‌های آسیب دیده، اهمیت شناسایی منابع سلولهای بنیادی مورد توجه خاص اکثر محققین می باشد (١٦).

در اوایل قرن ۲۱، زاک و همکارانش در مطالعه در مورد منابع مختلف سلولهای بنیادی، جمعیتی از سلولهای چند قوه ای تمایز نیافته را که از لحاظ فنوتیپی و شکلی شبیه سلولهای بنیادی مغز استخوان بودند از بافت چربی جداسازی کردند (۱۷).

سلولهای بنیادی را می توان از بافت‌های مختلف مانند مغز استخوان، بافت چربی، بند ناف به دست آورد. ولی بافت چربی یکی از مهمترین منبع سلولهای بنیادی می باشد که

دارای سلولهای بنیادی بیشتری نسبت به منابع دیگر دارد و سلولهای این بافت با روش تهاجمی کمتر به دست می آیند (۱۸).

در استفاده از سلولهای بنیادی برای درمان بیماریها، در نظر گرفتن قابل دسترس بودن، فراوانی سلولهای بنیادی، استخراج آسان، کم خطر بودن، توانایی تبدیل به رده های سلولی، ایمنی برای فرد گیرنده و عدم رد پیوند حائز اهمیت است (۱۹).

مارتین (Martin)، وی (Wei)، مانکا (Manca) و همکاران نشان دادند که سلولهای بنیادی به دست آمده از منابع مختلف ویژگی های مورفولوزیک و ایمنو فنوتیپی مشابه دارند. در تحقیق حاضر سلولهای به دست آمده از بافت چربی مارکرهای اصلی سطح سلولی یکسانی را بیان کردند. و سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی هر سه ناحیه در پاساژهای اولیه از نظر فنوتیپی نزدیک بهم بودند.(۱۷،۲۰).

سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی اینفراپاتلا با توجه به موقعیت قرار گیری در مجاورت غشاء سینوویال مفصل زانو، پتانسیل بیشتری برای تبدیل به بافت غضروف مفصلی دارند و همچنین پتانسیل تکثیر و تمایز آنها مستقل از سن می باشد. (۲۱،۲۲).

سرنوشت سلولهای بنیادی بستگی به محلی دارد که از آن استخراج می گردد (۱۲،۱۳). در این مطالعه نشان داده شد که سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی اینفرا پاتلا در مقایسه با سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی دنبه و زیر جلدی توان تکثیری بالاتری داشته و در مدت زمان کوتاهتری تکثیر شده فلاسک کشت سلولی را پر می کنند که این تفاوت در نتیجه تحلیلی آزمون واریانس هم مشاهده شد مطالعات قبلی گزارش کرده اند که سلولهای بنیادی ناحیه اینفرا پاتلا در مقایسه با سلولهای بنیادی به دست آمده از منابع بافت چربی زیر پوستی و سایر نواحی دیگر پتانسیل تکثیری بیشتری داشتند و سلولهای این ناحیه تا پاساژهای بالاتری توان تقسیم و تمایز خود بخودی را حفظ می کنند. و دیرتر به سن پیری می رسند و نقش مهمی در درمان استئو آرتریت دارند (۲۴،۲۳).

علاوه بر این، پتانسیل قابل توجهی کندروژنی سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی ایفراپاتلا باعث می شود که آنها کاندیدای امیدوار کننده ای برای استفاده در روش‌های دیگر ترمیمی بافت باشند (۲۵).

از محدودیت های مطالعه حاضر مشکل رعایت شرایط استریل در هنگام تهیه نمونه در کشتارگاه بوده و همچنین استفاده از روش هضم آنزیمی بود که از آنزیم کلاژناز استفاده می شد که اولاً آنزیم گران قیمت بوده، ثانیاً در جداسازی با روش هضم آنزیمی، ممکن است آسیب سلولی ایجاد گردد

نتیجه‌گیری

نتایج به دست آمده از این مطالعه مشخص کرد که سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی ناحیه اینفراپاتلا توان تکثیری بالاتری در مقایسه با سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی ناحیه دنبه و زیر جلدی دارند بنابراین بافت چربی این ناحیه یک منبع ایده ال و مناسبی برای تهیه سلولهای بنیادی بوده و سلولهای حاصل از این ناحیه می توانند جهت اهداف سلول درمانی و تحقیقات آتی کاربرد داشته باشند.

تشکر و قدردانی

بودجه این مطالعه توسط دانشگاه علوم پزشکی مراغه در قالب طرح تحقیقاتی مصوب و با کد اخلاقی (IR.MARAGHEHPHC.REC.1395.5) تأمین شده است لذا نویسندگان این مطالعه از معاونت آموزشی و پژوهشی دانشکده علوم پزشکی مراغه و کارشناسان و پزشکان کشتارگاه دامپزشکی مراغه جهت همکاری در تهیه نمونه های بافتی تشکر و قدردانی می نمایند.

تعارض منافع

تعارض منافع وجود ندارد.

منابع

1. Pinar Yilgor H, Seren Ha, Emre E, Gazi H, Mahmut N. Infrapatellar Fat Pad-Derived Stem Cell-Based Regenerative Strategies in Orthopedic Surgery. Knee Surgery & Related Research 2018;30(3):179-186.

2. Woo DH, Hwang HS, Shim JH. Comparison of adult stem cells derived from multiple stem cell niches. Biotechnology Letters 2016;38:751–759.

3. Weiping L, Linfeng H, Ying Li, Bin F, Gang Li, Leilei Ch, Liangliang Xu. Mesenchymal Stem Cells and Cancer:Clinical Challenges and Opportunities. BioMed Research International 2019; 7: 2820-853.

4. Koobatian MT, Liang MS, Swartz DD, Andreadis ST. Differential effects of culture senescence and mechanical stimulation on the proliferation and leiomyogenic differentiation of MSC from different sources: implications for engineering vascular grafts. Tissue Engineering, Parts A 2015; 21:1364–1375.

5. Hu YL, Fu YH, Tabata Y, Gao JQ. Mesenchymalstem cells: A promising targeted-delivery vehicle in cancer gene therapy. Journal of Controlled Release 2010; 147:154-16.

6. Zhao L, Johnson T, Liu D. Therapeutic angiogenesis of adipose-derived stem cells for ischemic diseases. Stem Cell Research Therapy 2017; 8: 125.

7. Naderi N, Combellack EJ, Gri_nM, Sedaghati T, Javed M, et al. The regenerative role of adipose- derived stem cells (ADSC) in plastic and reconstructive surgery. International Wound Journal 2017; 14: 112–124.

8. Hirano A, Sano M, Urushihata N, Tanemura H, Oki K, Suzaki E. Assessment of safety and feasibility of human allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells in a pediatric patient. Pediatric Research 2018, 84: 575–577.

9. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. Molecular Biology of the Cell 2002; 13: 4279–4295.

10. Lopa S, Colombini A, Stanco D et al. Donor-matched mesenchymal stem cells from knee infrapatellar and subcutaneous adipose tissue of osteoarthritic donors display differential chondrogenic and osteogenic commitment. European Cells & Materials 2014; 27: 298-311.

11. Stefan A, Sabine W. Adipose tissue derived mesenchymal stem cells for musculoskeletal repair in veterinary medicine. American Journal of Stem Cells 2015;4(1):1-12.

12. Chu DT, Tao Y, Son LH, Le DH et al. Cell source, differentiation, functional stimulation, and potential application of human thermogenic adipocytes in vitro. Journal of Physiology and Biochemistry 2016, 73, 315–321.

13. Ding DC, Wu KC, Chou HL, et al. Human infrapatellar fat pad-derived stromal cells have more potent differentiation capacity than other mesenchymal cells and can be enhanced by hyaluronan. Cell Transplant 2015; 24: 1221- 32.

14. Hindle P, Khan N, Biant L, Pe´ ault B. The infrapatellar fat pad as a source of perivascular stem cells with increased chondrogenic potential for regenerative medicine. Stem Cells Transplation Medicine 2017; 6: 77-87.

15. Siciliano C, Bordin A, Ibrahim M, Chimenti I, Cassiano F, Gatto I, et al. The adipose tissue of origin influences the biological potential of human adipose stromal cells isolated from mediastinal and subcutaneousfat depots. Stem Cell Research 2016; 17: 342-51.

16. Dominik DU, Anna L, Robert Re, David A, Zeshaan N. Suction assisted liposuction does not impair the regenerative potential of adipose derived stem cells. Journal of Translational Medicine 2016;12: 118- 126.

17. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: Implications for cell-based therapies. In: Advances in Tissue Engineering: Stem Cells and Developments 2010; 23: 119-33.

18. Ribeiro A, Laranjeira P, Mendes S, Martinho A, Pais M, et al. Mesenchymal stem cells from umbilical cord matrix, adipose tissue and bone marrow exhibit different capability to suppress peripheral blood B, natural killer and T cells. Stem Cell Ressearch Therapy 2013.

19. Pizzute T, Lynch K, Pei M. Impact of tissue-specific stem cells on lineage specific differentiation: a focus on musculoskeletal system. Stem Cell Reviews and Reports 2015;11:119- 32.

20. Wei X, Peng G, Zheng S. Differentiation of umbilical cord mesenchymal stem cells into steroidogenic cells in comparison to bone marrow mesenchymal stem cells. Cell Proliferation 2012; 45: 101-10.

21. Sun Yu, Song Ch and Ming P. Comparative advantages of infrapatellar fat pad: an emerging stem cell source for regenerative medicine. Rheumatology 2018; 57:2072 -2086.

22. Somoza RA, Welter JF, Correa D, Caplan AI. Chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells: challenges and unfulfilled expectations. Tissue Engineering Part B Review. 2014; 20:596- 608.

23. Ronaldo J, Henrique V, Almeid A, Daniel J, Fergal J, et al. Infrapatellar Fat Pad Stem Cells: From Developmental Biology to Cell Therapy. Stem Cells International 2017, 30(3): 179–186.

24. Dinh Ch, Thuy N, Nguyen Le, Bao T, Dang K, Adipose Tissue Stem Cells for Therapy: An Update on the Progress of Isolation, Culture, Storage, and Clinical Application. Journal Clinical Medicine 2019; 8: 917-936.

25. Si Z, Wang X, Sun C, Kang Y, Xu J, Wang X, et al. Adipose-derived stem cells: Sources, potency, and implications for regenerative therapies. Biomed. Pharmacother 2019; 114: 108 -130.